

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juli 2017 di Laboratorium Analitik dan UPT Instrumentasi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik (*Mettler toledo*), peralatan gelas, botol sampel borosilikat 250 mL, indikator pH universal, kertas saring, bola hisap, oven, desikator, seperangkat instrumentasi *flow injection analyser* meliputi: pompa peristaltik, *sample injector*, *silicon tubing*, *sample loop* (pipa kapiler PTFE 0,75 mm I.D), *mixing coil* (pipa kapiler PTFE 0,75 mm I.D), Spektrofotometer UV-Vis1601/Shimadzu.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia pro analisis (p.a) meliputi KI (*Merck*), KIO_3 (*Merck*), $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (*Merck*), indikator amilum 0,1%, H_2SO_4 0,01 M (*Merck*) HNO_3 (*Merck*), KCN (*Merck*) dan Na_2S (*Merck*) sampel limbah PETI dan aqua DM.

3.3 Tahapan Penelitian

Beberapa tahapan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu:

1. Preparasi larutan HNO_3 0,1 M
2. Preparasi sampel limbah
3. Preparasi larutan standar merkuri
4. Preparasi larutan dengan kondisi optimum
 - a. Preparasi larutan iodida (I^-) 50 mg.L^{-1}
 - b. Preparasi larutan iodat (IO_3^-) 0,01 M
 - c. Preparasi larutan H_2SO_4 0,01 M
 - d. Preparasi indikator amilum 0,1%
5. Preparasi larutan CN^-
6. Preparasi larutan S^{2-}
7. Pengaturan kondisi oprasional optimum alat FIA
8. Pembuatan kurva standar merkuri
9. Uji selektivitas terhadap pengaruh anion asing (CN^- dan S^{2-})

10. Uji validasi teknik FIA dengan metode adisi standar

11. Analisis Data

3.4 Metode Kerja

3.4.1 Preparasi larutan HNO_3 0,1 M

Larutan asam nitrat (HNO_3) 1 M dibuat dengan mengencerkan 6,4 mL asam nitrat pekat 65% dalam aqua DM hingga volume larutan 100,0 mL. Selanjutnya larutan HNO_3 1 M dipipet sebanyak 10,0 mL dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu takar 100,0 mL kemudian ditambahkan aqua DM hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan asam nitrat dengan konsentrasi 0,1 M.

3.4.2 Preparasi Sampel Limbah

3.4.2.1 Limbah Cair

Pengambilan sampel limbah cair mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI) 03-7016-2004. Limbah cair dimasukkan ke dalam botol sampel borosilikat berwarna gelap dengan ukuran 250 mL. Pengawetan sampel limbah yang mengandung merkuri dilakukan dengan menambahkan 3 mL HNO_3 pekat hingga pH sampel menjadi < 2 . Sampel limbah kemudian disimpan dalam lemari pendingin. Untuk mendapatkan konsentrasi sampel limbah yang lebih rendah dapat diencerkan menggunakan HNO_3 0,1 M

3.4.2.2 Tanah

Sampel tanah kering digerus menggunakan mortal untuk memperkecil ukuran partikel, kemudian diayak dengan ayakan 150 mesh hingga terpisahkan dari komponen yang besar. Sampel yang telah diayak ditimbang 1 g dan dilarutkan dalam 20 mL HNO_3 pekat. Selanjutnya sampel didestruksi dengan cara pemanasan pada *hot plate* dan pengadukan menggunakan stirrer selama 3 jam dengan suhu sekitar 120 °C. Hasil destruksi sampel disaring dengan kertas saring dan ditambahkan aqua DM hingga volume sampel menjadi 100 mL.

3.4.2.3 Sedimen

Pengambilan sampel sedimen berdasarkan metode AOAC 973.15 16th edisi 1999 dilakukan secara komposit yaitu dengan mencampurkan sedimen dari bagian tengah dan bagian pinggir kolam penampungan dengan memakai gayung. Sampel sedimen lalu

disimpan dalam botol sampel borosilikat berwarna gelap dan diawetkan dengan menambahkan 3 mL HNO_3 pekat hingga pH sampel menjadi < 2 . Sampel sedimen yang diperoleh selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang selama 3 hari, kemudian digerus dan dilakukan preparasi sama seperti sampel tanah.

3.4.3 Preparasi Larutan Stok Merkuri

Larutan stok merkuri 100 mg.L^{-1} dibuat dari padatan $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ yang ditimbang sebanyak 0,0171 g, kemudian dilarutkan dengan HNO_3 0,1 M pada gelas kimia. Setelah itu, larutan dipindahkan dalam labu takar 100 mL dengan bantuan corong gelas dan ditambahkan dengan HNO_3 0,1 M hingga tanda batas. Larutan merkuri dengan konsentrasi lebih rendah dibuat dengan mengencerkan larutan stok merkuri menggunakan HNO_3 0,1 M.

3.4.4 Preparasi Larutan dengan Kondisi Optimum

3.4.4.1 Preparasi Larutan Iodida (I^-)

Larutan I^- 100 mg.L^{-1} dibuat dari padatan kalium iodida yang dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 50°C selama 2 jam dalam oven, setelah itu padatan KI dimasukkan dalam desikator selama 30 menit. Padatan KI kemudian ditimbang sebanyak 0,013 gram dan dilarutkan dengan aqua DM dalam gelas kimia. Selanjutnya dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu takar 100,0 mL dengan bantuan corong gelas dan ditambahkan aqua DM hingga tanda batas. Larutan I^- dengan konsentrasi yang lebih kecil dapat dibuat dengan cara mengencerkan larutan induk iodida menggunakan aqua DM

3.4.4.2 Preparasi Larutan H_2SO_4 0,01 M

Larutan H_2SO_4 1 M dibuat dengan mengencerkan H_2SO_4 pekat 18 M sebanyak 5,5 mL dengan aqua DM hingga volume larutan 100,0 mL. Selanjutnya larutan H_2SO_4 1 M dipipet sebanyak 1,0 mL ke dalam labu takar 100,0 mL dan diencerkan hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan asam sulfat dengan konsentrasi 0,01 M. H_2SO_4 merupakan asam kuat yang bersifat eksotermis, maka pengenceran dilakukan pada lemari asam dengan memasukkan aqua DM terlebih dahulu ke dalam labu takar kemudian H_2SO_4 ditambahkan secara perlahan melalui dinding labu takar, lalu ditambahkan aqua DM hingga tanda batas.

3.4.4.3 Preparasi Larutan Iodat (IO_3^-) 0,01 M

Larutan iodat 0,01 M dibuat dengan melarutkan padatan KIO_3 sebanyak 0,214 gram menggunakan H_2SO_4 0,01 M dalam gelas kimia 100 mL. Selanjutnya larutan dipindahkan dalam labu takar 100,0 mL menggunakan bantuan corong gelas lalu ditambahkan H_2SO_4 0,01 M hingga tanda batas.

3.4.4.4 Preparasi Indikator Amilum 0,1%

Indikator amilum 0,1% (b/v) dibuat dengan melarutkan 0,1 gram amilum dan 0,002 gram asam salisilat dalam 100,0 mL aqua DM, Larutan kemudian dididihkan beberapa menit. Setelah itu didinginkan, kemudian disaring dengan kertas saring.

3.4.5 Preparasi larutan CN^-

Larutan induk CN^- 200 mg.L^{-1} dibuat dari padatan KCN yang ditimbang sebanyak 0,05 gram, kemudian dilarutkan dengan aqua DM pada gelas kimia. Larutan ini kemudian dipindahkan dalam labu takar 100 mL, dan ditambahkan aqua DM hingga tanda batas.

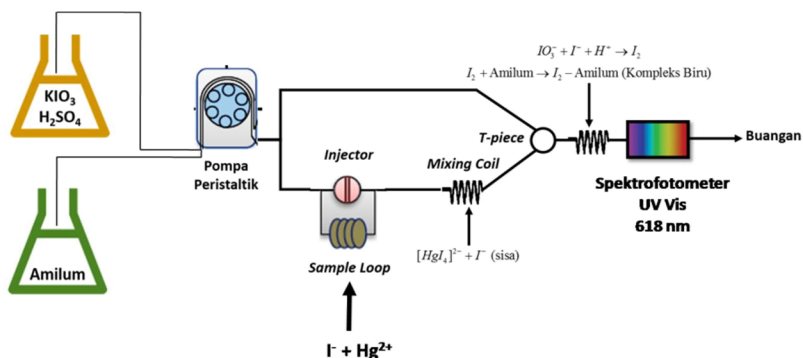
3.4.6 Preparasi larutan S^{2-}

Larutan induk S^{2-} 200 mg.L^{-1} dibuat dari padatan Na_2S yang ditimbang sebanyak 0,048 gram, kemudian dilarutkan dengan aqua DM pada gelas kimia. Larutan ini kemudian dipindahkan dalam labu takar 100,0 mL, dan ditambahkan aqua DM hingga tanda batas.

3.4.7 Pengaturan Kondisi Oprasional Optimum Alat FIA

Konstruksi oprasional alat FIA untuk penentuan merkuri mengacu pada penelitian yang telah dilakukan Sulistyarti [15].

Rangkaian alat FIA yang digunakan ditunjukkan pada **Gambar 3.1.**



Gambar 3.1 Rangkaian instrumen FIA untuk penentuan merkuri

Konsep kerja FIA untuk penentuan merkuri berdasarkan penurunan absorbansi kompleks iodium-amilum adalah sebagai berikut: Larutan iodat dalam H_2SO_4 0,01 M yang berada pada Erlenmeyer pertama serta larutan amilum 0,1% pada erlenmeyer kedua dialirkan melalui 2 pipa kapiler dengan pompa. Setelah kedua larutan tersebut dialirkan, sampel diinjeksikan menggunakan *syringe* untuk mengisi *sample loop* pada posisi *load*. Sampel yang mengandung merkuri dan iodida berlebih akan bereaksi membentuk kompleks stabil $[\text{HgI}_4]^{2-}$. Ketika *loop* diputar pada posisi *inject*, sumber iodida yang tersisa akan dioksidasi oleh IO_3^- membentuk I_2 yang kemudian dapat berikatan dengan amilum membentuk kompleks iodium-amilum berwarna biru sehingga serapannya dapat terukur pada panjang gelombang 618 nm. Keberadaan merkuri(II) akan menyebabkan penurunan absorbansi kompleks iodium-amilum yang terukur.

3.4.8 Pembuatan Kurva Standar Merkuri

Konsentrasi merkuri divariasikan antara 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 mg.L^{-1} . Pengukuran dilakukan pada kondisi larutan iodat 0,01 M dalam H_2SO_4 0,01 M, volume *sample loop* 250 μL , iodida 50 mg.L^{-1} , indikator amilum 0,1%, panjang *mixing coil* 100 cm, laju alir 5,4 mL/min dan λ_{maks} 618 nm. Selanjutnya dari pengukuran dapat diketahui nilai absorbansi yang terukur, sehingga dapat diperoleh data untuk membuat kurva standar hubungan antara konsentrasi merkuri (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y) dan diperoleh persamaan regresi.

3.4.9 Uji Selektivitas Pengukuran

Uji selektivitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh ion asing pada sampel, dengan mengadisi larutan anion asing S^{2-} dan CN^- ke dalam 5 mg.L^{-1} larutan sampel merkuri(II). Dalam uji ini, digunakan variasi konsentrasi larutan anion asing 1x, 2x, 5x dan 10x konsentrasi sampel merkuri. Uji pengaruh anion asing dilakukan pada kondisi KIO_3 0,01 M dalam H_2SO_4 0,01 M; volume *sample loop* 250 μL ; laju alir 5,4 mL/min; dan panjang *mixing coil* 100 cm. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 618 nm sehingga dari hasil pengukuran diperoleh data antara konsentrasi anion pengganggu dengan absorbansi dan dihitung *recovery*.

3.4.10 Uji Validitas

3.4.10.1 Preparasi Sampel Sintetis

Sampel sintetis dibuat dengan mengencerkan larutan induk merkuri menjadi 3 variasi konsentrasi, yaitu 3 mg.L^{-1} , 5 mg.L^{-1} dan 7 mg.L^{-1} dalam volume total 6 mL.

3.4.10.2 Preparasi Sampel Alami

Sampel alami diperoleh dari PETI berupa limbah cair, tanah dan sedimen. Untuk mendapatkan konsentrasi sampel limbah yang lebih rendah, larutan sampel hasil destruksi dapat diencerkan menggunakan HNO_3 0,1 M. Selanjutnya diambil 2 mL larutan sampel yang telah diencerkan sebanyak 3 kali, kemudian masing-masing ditambahkan larutan standar merkuri(II) sebesar 2 mg.L^{-1} , 4 mg.L^{-1} dan 6 mg.L^{-1} . Setelah itu, dalam masing masing botol sampel ditambahkan 2 mL I^- 100 mg.L^{-1} dan HNO_3 0,1 M hingga volume total sampel menjadi 8 mL.

3.4.10.3 Uji Validitas Sampel Sintetis

Uji validasi sampel sintetis dilakukan dengan variasi konsentrasi merkuri yang telah ditentukan pada saat preparasi yaitu 3 mg.L^{-1} , 5 mg.L^{-1} , dan 7 mg.L^{-1} . Larutan merkuri di pipet 0,9 mL, 1,5 mL dan 2,1 mL, Selanjutnya sampel ditambahkan dengan 3 mL I^- 100 mg.L^{-1} dan ditambahkan HNO_3 0,1 M hingga volume total sampel menjadi 8 mL. Kemudian dilakukan analisis dengan metode FIA-Spektrofotometri pada λ_{maks} 618 nm dengan kondisi KIO_3 0,01 M dalam H_2SO_4 0,01 M, indikator amilum 0,1% volume *sample loop* 250 μL , laju alir 5,4 mL/min, dan panjang *mixing coil* 100 cm. Pada

hasil pengukuran diperoleh data konsentrasi dan absorbansi sehingga *recovery* dari masing-masing larutan dapat dihitung.

3.4.10.4 Uji Validitas Sampel Alami

Uji validasi sampel alami dilakukan dengan sampel alami yang telah ditambahkan larutan standar merkuri dengan 3 variasi konsentrasi, yaitu 2 mg.L⁻¹, 4 mg.L⁻¹ dan 6 mg.L⁻¹. Selanjutnya sampel dan dilakukan analisis dengan metode FIA-Spektrofotometri pada panjang gelombang 618 nm dengan kondisi I⁻ 50 mg.L⁻¹, IO₃⁻ 0,01 M dalam H₂SO₄ 0,01 M, volume *sample loop* 250 µL, dan panjang *mixing coil* 100 cm. Pada hasil pengukuran diperoleh data konsentrasi dan absorbansi sehingga *recovery* dari masing-masing larutan dapat dihitung.

3.4.11 Analisis Data

3.4.11.1 Perhitungan Persamaan Regresi Linier dan Koefisien Kolerasi

Pembuatan kurva standar antara konsentrasi sampel merkuri terhadap absorbansi digunakan persamaan regresi linier (persamaan 3.1).

$$y = a x + b \quad (3.1)$$

dimana y adalah absorbansi (A), dan x adalah konsentrasi sampel yang terukur. Nilai a dan b dapat ditentukan dengan persamaan 3.2 dan 3.3.

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (3.2)$$

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} - a \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3.3)$$

Sedangkan koefisien korelasi R² dari persamaan regresi tersebut ditentukan dengan persamaan 3.4.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{(\sum_{i=1}^n x_i^2)(\sum_{i=1}^n y_i^2)}} \quad (3.4)$$

Koefisien korelasi digunakan untuk menyatakan ketepatan rata-rata semua titik koordinat pada kurva standar terhadap garis linier yang diperoleh dari persamaan regresi.

3.4.11.2 Perhitungan Standar Deviasi

Standar deviasi dan standar deviasi relatif digunakan untuk mengetahui ketelitian dari data-data absorbansi larutan sampel yang telah diperoleh dengan persamaan 3.5 dan 3.6.

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \bar{x})^2} \quad (3.5)$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (3.6)$$

Keterangan:

- SD = standar deviasi
- N = pengulangan yang dilakukan
- x_i = nilai hasil yang diperoleh
- \bar{x} = rata – rata nilai
- RSD = standar deviasi relatif

3.4.11.3 Uji-t

Uji-t dilakukan untuk mengetahui apakah hasil pengukuran antar sampel yang dianalisis memberikan hasil yang tidak berbeda nyata atau sangat berbeda. Uji-t dirumuskan pada persamaan 3.7

$$t_{hitung} = \frac{\bar{x} - \mu}{S / \sqrt{n}} \quad (3.7)$$

Dimana, \bar{x} merupakan rata-rata hasil pengukuran, n adalah jumlah sampel, S adalah standar deviasi. Setelah itu t_{hitung} dibandingkan dengan t_{tabel} dengan tingkat kepercayaan tertentu dan derajat kebebasan $df = n-1$, dengan syarat, yaitu $t_{hitung} > t_{tabel}$, maka hasil pengukuran dianggap beda. Namun, apabila $t_{hitung} < t_{tabel}$, maka hasil pengukuran tidak berbeda secara signifikan dengan tingkat kepercayaan 95%.

3.4.11.4 Perhitungan Recovery

% recovery dapat dihitung melalui persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Konsentrasi sampel dengan ion asing}}{\text{Konsentrasi sampel tanpa ion asing}} \times 100$$